



LAPORAN PENELITIAN
DIPA PNBP UNIVERSITAS AIRLANGGA
TAHUN ANGGARAN 2006

UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK DAN INFUSA COLEUS AMBOINICUS, LOUR MENGGUNAKAN ESEI MTT

Peneliti:

Devi Rianti, drg., M.Kes.

**LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Dibiayai oleh DIPA Penerimaan Negara Bukan Pajak
Universitas Airlangga Tahun 2006
SK Rektor Universitas Airlangga Nomor 4017/J03/PP/2006
Tanggal 2 Juni 2006
Nomor Urut 13

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA**

Nopember, 2006





**DEPARTEMEN PENDIDIKAN NASIONAL
UNIVERSITAS AIRLANGGA
LEMBAGA PENELITIAN DAN
PENGABDIAN KEPADA MASYARAKAT**

Kampus C Unair, Jl. Mulyorejo Surabaya 60115 Telp. (031) 5995246, 5995248, 5995247 Fax. (031) 5962066
E-mail : infolemlit@unair.ac.id - http : //ppm.unair.ac.id

**IDENTITAS DAN PENGESAHAN
LAPORAN AKHIR HASIL PENELITIAN**

1. Judul Penelitian	: Uji Sitotosisitas Ekstrak dan Infusa <i>Coleus Amboinicus</i> , <i>Lour</i> Menggunakan ESEI MTT
a. Macam Penelitian	: () Fundamental, (V) Terapan, () Pengembangan, () Institusional
b. Katagori Penelitian	: () I (V) II () III () IV
2. Kepala Proyek Penelitian	
a. Nama Lengkap dan Gelar	: drg. Devi Rianti, M.Kes.
b. Jenis Kelamin	: Perempuan
c. Pangkat/Golongan dan NIP	: Pembina (Gol. III/a) 131878384
d. Jabatan Sekarang	: Lektor Kepala
e. Fakultas/Puslit/Jurusan	: Fakultas Kedokteran Gigi
f. Univ./Inst./Akademi	: Universitas Airlangga
g. Bidang Ilmu Yang Diteliti	: IMTKG
3. Jumlah Tim Peneliti	: 1 (satu) orang
4. Lokasi Penelitian	: - Lab. Fitokimia Fak. Farmasi Unair - Lab. PMPP Pusvetma Surabaya
5. Kerjasama dengan Instansi Lain	
a. Nama Instansi	: -
b. A l a m a t	: -
6. Jangka Waktu Penelitian	: 5 (lima) bulan
7. Biaya Yang Diperlukan	: 7.500.000,00
8. Seminar Hasil Penelitian	
a. Dilaksanakan Tanggal	:
b. Hasil Penelitian	: () Baik Sekali (V) Baik () S e d a n g () K u r a n g

Surabaya, September 2006



Mengetahui/Mengesahkan :

a.n. Rektor

Lembaga Penelitian dan Pengabdian Kepada Masyarakat

Prof. Dr. H. Sarmanu, MS.
NIP. 130 701 125

RINGKASAN

UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK DAN INFUSA *COLEUS AMBOINICUS*, *LOUR* MENGGUNAKAN ESEI MTT (Devi Rianti, 2006, 25 halaman)

Saat ini pemerintah Indonesia sedang menggalakkan pemakaian bahan tradisional sebagai bahan alternatif pengobatan, karena Indonesia kaya akan tanaman berkhasiat obat. Beberapa obat tradisional yang berasal dari tumbuhan yang dapat dipakai sebagai obat kumur dan dapat berfungsi sebagai antiseptik maupun desinfektan antara lain adalah daun semanggi, daun jinten (*Coleus amboinicus*, *Lour*), daun sirih, gambir, daun saga dan daun kacapiring. Daun jinten dengan nama latin *Coleus amboinicus Lour*. Kandungan daun tersebut adalah minyak atsiri antara lain fenol, karvakrol, isopropil -o- kresol dan sineol.

Pada umumnya ketersediaan bahan ekstrak lebih sulit didapat, sehingga perlu alternatif cara pengolahan bahan tanaman obat. Menurut beberapa penelitian, pengolahan tanaman obat dengan teknik infusa ternyata lebih baik daripada penjerangan atau perebusan. Kelebihan infusa adalah mudah cara pembuatannya dan sudah memasyarakat. Disamping itu harga lebih murah karena tidak memerlukan perlakuan khusus dan peralatan yang mutakhir. Pada penggunaan ekstrak dan infusa *CAL* sebagai alternatif obat kumur maka akan kontak dengan mukosa rongga mulut.

Menurut Hugo dan Russel (1989) senyawa fenol bersifat toksik pada konsentrasi yang tinggi. Salah satu pengujian untuk menentukan berbagai sifat baik sebagai desinfektan maupun antiseptik menggunakan uji sitotoksisitas terhadap jaringan (Ma'at, 2001).

Telah dilakukan penelitian eksperimental laboratoris mengenai uji sitotoksisitas ekstrak dan infusa *Coleus amboinicus*, *Lour* menggunakan esei *MTT*. Diharapkan dari penelitian ini dapat diketahui konsentrasi ekstrak dan infusa *Coleus amboinicus*, *Lour* sitotoksisitas rendah terhadap *Cell lines BHK-21*. Penelitian ini menggunakan ekstrak *Coleus amboinicus*, *Lour* dengan konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5%, 15% dan infusa *Coleus amboinicus*, *Lour* dengan konsentrasi 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% . Sitotoksisitas diukur dengan Esei *MTT* yang ditandai oleh dehidrogenase pada mitokondria yang aktif, menghasilkan produk *formazan* biru keunguan yang tidak larut. Produksi *formazan* dapat dihitung dengan melarutkannya dan mengukur densitas optik dari larutan yang dihasilkan. Reaksi warna biru keunguan digunakan sebagai ukuran dari jumlah sel hidup dengan bantuan alat spektrofotometer dengan panjang gelombang 630 nm. Analisis data yang digunakan adalah analisis Anava satu arah, kemudian dilanjutkan dengan *LSD* dengan taraf kemaknaan 5%.

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah konsentrasi larutan ekstrak *Coleus amboinicus*, Lour yang semakin meningkat, yaitu 7,5%, 10%, 12,5%, 15% maka semakin tinggi sitotoksitasnya. Konsentrasi larutan infusa *Coleus amboinicus*, Lour yang semakin meningkat, yaitu 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% maka semakin tinggi sitotoksitasnya. Persentase sel *BHK-21* yang hidup pada konsentrasi larutan ekstrak maupun infusa tersebut semuanya masih diatas 80%, sehingga larutan ekstrak dan infusa *CAL* tidak toksik

(Laboratorium Ilmu Material dan Teknologi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga. No Kontrak : 615/JO3.2/PG/2006/7 Juni 2006/ DIPA Unair)



KATA PENGANTAR

Laporan ini memuat laporan penelitian tentang UJI SITOTOKSISITAS EKSTRAK DAN INFUSA *COLEUS AMBOINICUS*, *LOUR* MENGGUNAKAN ESEI *MIT*. Hasil penelitian yang diperoleh akan memberikan informasi ilmiah kepada dokter gigi dan masyarakat mengenai konsentrasi ekstrak dan infusa *Coleus amboinicus*, *Lour* yang sitotoksitasnya rendah terhadap *Cell lines BHK-21*.

Harapan kami mudah-mudahan laporan penelitian ini dapat bermanfaat bagi pembaca pada umumnya dan bagi peneliti pada khususnya. Dengan selesainya penelitian ini peneliti mengucapkan terima kasih kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga, yang telah memberikan kesempatan kepada peneliti untuk melakukan penelitian dengan dana DIPA PNBP Universitas Airlangga.
2. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Airlangga yang telah memberikan dana DIPA PNBP Universitas Airlangga untuk penelitian ini.
3. Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang memberi kesempatan untuk melakukan penelitian ini.
4. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang telah memberikan fasilitas guna membantu pelaksanaan penelitian ini.
5. Kepala Bagian PMPP Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya yang telah memberikan fasilitas guna membantu pelaksanaan penelitian ini.

Surabaya, Oktober 2006

Ketua Peneliti

DAFTAR ISI

LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN	iii
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR LAMPIRAN	viii
 BAB I. PENDAHULUAN	 1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	4
BAB III. TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	9
BAB IV. METODE PENELITIAN	10
BAB V. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	15
BAB VI. KESIMPULAN.....	23
DAFTAR PUSTAKA	24
LAMPIRAN	26

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 : Nilai rerata densitas optik formazan pada larutan ekstrak <i>Coleus amboinicus</i> , <i>Lour</i> , simpang baku , prosentasi dan probabilitas normalitas	15
Tabel 5.2 : Nilai rerata densitas optik formazan pada larutan infusa <i>Coleus amboinicus</i> , <i>Lour</i> ,simpang baku , prosentasi dan probabilitas normalitas	16
Tabel 5.3 : Hasil Uji Anava satu arah densitas optik formazan pada larutan ekstrak <i>Coleus amboinicus</i> , <i>Lour</i> dengan konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5%, 15% dan kontrol sel	17
Tabel 5.4 : Hasil Uji Anava satu arah densitas optik formazan pada larutan infusa <i>Coleus amboinicus</i> , <i>Lour</i> dengan konsentrasi 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% dan kontrol sel	17
Tabel 5.5 : Uji <i>LSD</i> densitas optik formazan antar masing-masing perlakuan pada larutan ekstrak <i>Coleus amboinicus</i> , <i>Lour</i>	18
Tabel 5.6 : Uji <i>LSD</i> densitas optik formazan antar masing-masing perlakuan pada larutan infusa <i>Coleus amboinicus</i> , <i>Lour</i>	18

DAFTAR LAMPIRAN

Identifikasi Tanaman.....	26
Uji Distribusi Normal	27
Uji Anava satu arah.....	28
Uji <i>LSD</i>	29



BAB I

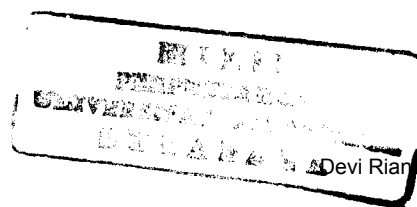
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Berpedoman pada sistem kesehatan nasional, bahwa pengobatan tradisional yang berdaya guna dan berhasil guna akan dibina, dibimbing dan dimanfaatkan untuk penelitian dan pengujian secara ilmiah terhadap tanaman Indonesia agar aman digunakan. Pemerintah Indonesia saat ini sedang menggalakkan pemakaian bahan tradisional sebagai bahan alternatif pengobatan, karena Indonesia kaya akan tanaman berkhasiat obat.

Salah satu tanaman obat keluarga yang sering ditanam dikebun dan mudah tumbuh adalah Daun jinten. Menurut Wijayakusuma et al.(1996) Daun jinten dengan nama latin *Coleus amboinicus*, Lour (CAL) dan nama simplisia *Plectranthi amboinicus folium*, adalah tanaman yang berkhasiat untuk pengobatan sariawan dan antijamur. Kandungan kimia tanaman tersebut antara lain kalium, minyak atsiri yang mengandung karvakrol, isopropil-o-kresol, fenol dan sineol. Dijelaskan lebih lanjut oleh Weehuizen bahwa dari 120 Kg daun segar CAL diperoleh 25 ml minyak atsiri. Selanjutnya dilaporkan bahwa 25 ml minyak atsiri tersebut setara dengan 0,2 % minyak atsiri yang mengandung senyawa turunan fenol yaitu isopropil-o-kresol yang mempunyai daya antiseptik tinggi (Heyne, 1987).

Pemeriksaan pendahuluan kandungan kimia CAL asal tawangmangu dengan penyarian alkohol 96% ternyata mengandung alkaloida, saponin, kardenolida dan bufadienolida serta polifenol (Hutapea, 1982). Senyawa kimia sineol mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, *Trichiphyton metagrophytes* dan *Cryptococcus neoformans* (Hammerschmidt, et al., 1993). Fenol dan kresol dapat membunuh sel vegetatif jamur dan



bakteri dengan mengadakan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan sehingga permeabilitas bakteri meningkat (Wistreich dan Lechtman, 1988 cit Rahardjo, 1993). Hasil penelitian Devi (2003) dinyatakan bahwa larutan ekstrak *CAL* sebesar 7,5%, 10%, 12,5% dan 15% dapat mengurangi keberadaan *Candida albicans* pada resin akrilik.

Streptococcus mutans (*S. mutans*) adalah bakteri penghuni normal didalam rongga mulut, tetapi bila lingkungan menguntungkan dan terjadi peningkatan populasi dapat berubah menjadi patogen (Kidd & Bechal, 1992). Bakteri tersebut telah diakui di dunia kedokteran gigi sebagai penyebab utama terjadinya karies gigi. Penelitian Devi (2005) selanjutnya menghasilkan konsentrasi infusa *CAL* yang semakin meningkat, yaitu 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% akan menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* dan *S. mutans*.

Pada umumnya ketersediaan bahan ekstrak lebih sulit didapat, sehingga perlu alternatif cara pengolahan bahan tanaman obat. Menurut penelitian, pengolahan tanaman obat dengan teknik infusa ternyata lebih baik daripada penjerangan atau perebusan (Eha, 1999). Kelebihan infusa, selain mudah cara membuatnya dan sudah memasyarakat, juga harga lebih murah karena tidak memerlukan perlakuan khusus dan peralatan yang mutakhir dibanding dengan ekstrak.

Menurut Bahalwan dan Sjabana (2002) penggunaan obat tradisional di Indonesia adalah sebagai pencegahan. Beberapa obat tradisional herbal yang dapat digunakan sebagai obat kumur dan dapat berfungsi sebagai antiseptik dan desinfektan antara lain adalah daun semanggi, daun jinten (*CAL*), daun sirih, gambir, daun saga dan daun kacapiring. Pada

penggunaan ekstrak maupun infusa *CAL* sebagai alternatif obat kumur maka akan kontak dengan mukosa rongga mulut.

Menurut Hugo dan Russel(1989) senyawa fenol bersifat toksik pada konsentrasi yang tinggi. Salah satu pengujian untuk menentukan berbagai sifat dari suatu desinfektan maupun antiseptik adalah uji sitotoksitas terhadap jaringan (Ma'at, 2001).

Uji sitotoksitas adalah bagian dari evaluasi bahan kedokteran gigi dan diperlukan untuk prosedur skrining standart. Tujuan uji ini untuk mengetahui efek toksik suatu bahan secara langsung terhadap kultur sel. Kultur *cell lines* mempunyai keuntungan, yaitu pasase dapat dilakukan lebih dari 50-70 kali, kecepatan pertumbuhan sel tinggi, integritas sel tetap terjaga dan sel mampu bermultiplikasi dalam suspensi. *Cell lines* telah banyak digunakan untuk menguji toksisitas bahan dan obat di bidang kedokteran gigi, antara lain sel *BHK-21* yang berasal dari fibroblas ginjal hamster. Penggunaan kultur sel *BHK-21* (*Baby Hamster Kidney-21*) yang berasal dari fibroblas ginjal hamster, oleh karena sel fibroblas merupakan sel terpenting dan komponen terbesar dari pulpa, ligamen periodontal dan gingiva (Freshney, 1987). Salah satu metode untuk menilai sitotoksitas suatu bahan adalah esei *MTT* (Fazwishni dan Hadijono, 2000).

Esei *MTT* didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam *MTT*. Prinsip esei ini adalah pemecahan cincin tetrazolium *MTT* (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) oleh adanya dehidrogenase pada mitokondria yang aktif, menghasilkan produk formazan biru keunguan yang tidak larut (Kasugai et al, 1999). Keunggulan Uji ini sensitif, cepat, semi otomatis, dan tidak menggunakan radioisotop (Fazwishni dan Hadijono, 2000).

Dari hasil penelitian terdahulu dinyatakan bahwa ekstrak maupun infusa *CAL* mempunyai sifat antiseptik terhadap *C. albicans* maupun *S. mutans*. Kandungan kimianya menurut beberapa pustaka dikatakan bersifat toksik, sedangkan sebagai alternatif obat kumur kontak terhadap mukosa rongga mulut. Salah satu pengujian untuk menentukan berbagai sifat dari suatu desinfektan maupun antiseptik adalah uji sitotoksisitas terhadap jaringan.

1.2 Rumusan Masalah

Dari uraian pada latar belakang masalah, maka timbul permasalahan:

1. Apakah ada perbedaan sitotoksisitas ekstrak *CAL* pada konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5%, 15% terhadap *Cell lines BHK-21* dengan menggunakan esei *MTT* ?
2. Apakah ada perbedaan sitotoksisitas infusa *CAL* pada konsentrasi 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% terhadap *Cell lines BHK-21* dengan menggunakan esei *MTT* ?

1.3 Hipotesis

1. Ada perbedaan sitotoksisitas ekstrak *CAL* pada konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5%, 15% terhadap *cell lines BHK-21* dengan menggunakan esei *MTT*.
2. Ada perbedaan sitotoksisitas infusa *CAL* pada konsentrasi 12,5%, 15%, 17,5%, 20% dan 22,5% terhadap *cell lines BHK-21* dengan menggunakan esei *MTT*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Coleus amboinicus*, Lour (*CAL*)

Daun jinten adalah salah satu jenis tanaman yang digunakan sebagai tanaman obat keluarga. Daun jinten mempunyai nama ilmiah *Coleus amboinicus* Lour yang digunakan dalam ilmu botani. Klasifikasi *Coleus amboinicus* Lour adalah:

Divisi *Spermatophyta*

Kelas *Dicotyledonae*

Ordo *Tubiflorae*

Famili *Lamiaceae* atau *Labiatae*

Genus *Coleus*

Spesies *Coleus amboinicus* Lour (Lawrence, 1951).

Nama daerah bermacam-macam tergantung daerahnya, di Sumatra disebut daun jinten, daun hati-hati, di Jawa barat disebut acerang, di Jawa Tengah dan Jawa Timur disebut daun jinten atau daun kucing dan di Nusatenggara disebut golong (Heyne, 1987; Wijayakusuma et al., 1996).

CAL diperkirakan berasal dari India, tersebar di kawasan tropika dan pantropika. Tumbuh liar di pegunungan atau tempat lainnya, kadang ditanam di halaman atau kebun, pada tempat yang sedikit terlindung sinar matahari dan dapat tumbuh di dataran rendah sampai 1100 meter dari permukaan laut (Heyne, 1987; Wijayakusuma et al., 1996).

Morfologi tanaman *CAL* berbentuk semak berumur tahunan, pangkalnya seringkali seperti kayu, dengan tinggi sampai 1 meter. Daunnya tunggal, tebal berdaging, letak berhadapan, bertangkai bentuknya bulat telur agak bundar, ujung runcing, tepi bergerigi, permukaannya seperti beludru, tulang menyirip dan bercabang sehingga seperti

jala. Panjang daun 5-7 cm, lebar 4-6 cm, warnanya hijau muda (Wijayakusuma et al., 1996).

Kandungan kimia dari daun adalah kalium dan minyak atsiri, yang mengandung karvakrol serta isopropil-o-kresol, fenol dan sineol (Wijayakusuma et al., 1996). Weehuizen menyatakan bahwa dari 120 Kg daun segar diperoleh 25 ml minyak atsiri, setara dengan 0,2% minyak atsiri yang mengandung turunan fenol yaitu isopropil-o-kresol (Heyne, 1987). Efek farmakologisnya adalah antiseptik dan antifungi. Pada pemakaian sehari-hari sebagai obat tradisional digunakan sebagai obat batuk, sariawan, demam, sakit gigi dan panu (Wijayakusuma et al., 1996).

Menurut Hammerschmidt et al. (1993) senyawa kimia sineol mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, *Trichopyton metagrophytes* dan *Cryptococcus neoformans*. Fenol dan kresol dapat membunuh sel vegetatif, jamur dan bakteri dengan mengadakan denaturasi protein dan menurunkan tegangan permukaan sehingga permeabilitas bakteri meningkat (Wistreich dan Lechtman, 1988 cit Rahardjo, 1993), sedangkan karvakrol disebutkan dalam Merck Index (Windholz, 1989) memiliki sifat antijamur.

Bahan anti bakteri dapat diklasifikasikan menjadi dua, yaitu antiseptik dan desinfektan. Antiseptik dipakai untuk permukaan jaringan hidup dan menghambat pertumbuhan kuman tetapi tidak membunuhnya. Reaksi yang terbatas ini perlu untuk menjamin tidak terjadinya kerusakan dari jaringan hidup. Desinfektan dipakai tidak hanya menghambat pertumbuhan dari kuman, tetapi dalam banyak hal dapat membunuhnya. Sukar untuk menentukan mana yang termasuk golongan antiseptik atau desinfektan, perbedaan terletak pada besar kecilnya konsentrasi di dalam larutan. Bila konsentrasinya besar adalah golongan desinfektan dan sebaliknya (O'Neil, 1975). Efektivitas dari

antiseptik maupun desinfektan ini tergantung dari konsentrasi dan lamanya kontak dengan mikroba.

Berdasarkan rumus kimianya, antiseptik dan desinfektan dapat diklasifikasikan menjadi beberapa golongan, yaitu golongan fenol dan derivatnya, golongan halogen, golongan pengoksidasi, golongan amonium kuarterner, golongan alkohol dan golongan logam berat (Wistreich dan Lechtman, 1988 cit Rahardjo, 1993).

2.2. Sitotoksisitas

Uji sitotoksisitas adalah cara menilai sitotoksisitas suatu bahan dengan menghitung jumlah atau pertumbuhan sel, setelah terpapar bahan yang akan diuji (Craig & Powers, 2002). Uji sitotoksisitas adalah bagian dari evaluasi bahan kedokteran gigi dan diperlukan untuk prosedur skrining standar. Tujuan uji ini untuk mengetahui efek toksis suatu bahan secara langsung terhadap kultur sel. Kultur *cell lines* mempunyai keuntungan, yaitu pasase dapat dilakukan lebih dari 50-70 kali, kecepatan pertumbuhan sel tinggi, integritas sel tetap terjaga dan sel mampu bermultiplikasi dalam suspensi. *Cell lines* telah banyak digunakan untuk menguji toksisitas bahan-bahan dan obat-obatan di bidang kedokteran gigi, antara lain sel *Baby Hamster Kidney (BHK-21)* yang berasal dari fibroblas ginjal bayi *hamster* (Fazwishni & Hadijono, 2000). *Cell line baby hamster clone 21 (BHK-21)* paling banyak digunakan karena mudah ditumbuhkan, cepat pertumbuhannya, dapat di subkultur lebih dari 50 kali dan relatif mudah didapatkan. Sel fibroblas merupakan sel terpenting pada komponen pulpa, ligamen periodontal dan gingiva (Freshney, 1987).

Telli et al (1999) pada penelitiannya menyatakan bahwa parameter toksisitas berdasarkan CD_{50} , artinya suatu bahan dikatakan toksik apabila prosentase sel hidup setelah terpapar bahan tersebut, kurang dari 50 %.

Salah satu metode untuk menilai sitotoksitas suatu bahan adalah dengan menggunakan esei *MTT* (Fazwishni & Hadijono, 2000).

MTT adalah molekul larut berwarna kuning, yang dapat digunakan untuk menilai aktifitas ensimatik selular. Bila sel dapat mereduksi *MTT*, *formazan* yang dihasilkan berwarna biru keunguan, tidak larut dan mengendap pada sel. Jumlah *formazan* yang terbentuk, proporsional dengan aktifitas ensimatik. Uji ini menghitung aktifitas dehidrogenase selular, mengubah bahan kimia yang disebut *MTT*, melalui sejumlah bahan reduksi selular menjadi senyawa biru, *formazan* yang tidak larut (Craig dan Powers, 2002).

Kasugai et al (1991) menyatakan bahwa esei *MTT* didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam *MTT*. Prinsip esei ini adalah pemecahan cincin tetrazolium *MTT* (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) oleh adanya dehidrogenase pada mitokondria yang aktif, menghasilkan produk *formazan* biru keunguan yang tidak larut. Mekanismenya adalah garam tetrazolium berwarna kuning tersebut akan direduksi di dalam sel yang mempunyai aktifitas metabolik. Mitokondria dari sel hidup yang berperan penting dalam hal ini, adalah yang menghasilkan dehidrogenase. Bila dehidrogenase tidak aktif karena efek sitotoksik, maka *formazan* tidak akan terbentuk. Produksi *formazan* dapat dihitung dengan melarutkannya dan mengukur densitas optik dari larutan yang dihasilkan (Craig dan Powers, 2002). Ada berbagai protokol penggunaan esei *MTT*, tetapi konsentrasi *MTT* yang digunakan semuanya sama yaitu melarutkan bubuk kuning *MTT* 5mg/ml dalam *PBS*. Reaksi warna biru keunguan digunakan sebagai ukuran dari jumlah sel hidup. Jumlah sel hidup dapat diukur sebagai hasil produk *MTT* dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 570-690 nm (Park, 2006).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1 Tujuan Penelitian

1. Untuk mengetahui perbedaan sitotoksitas ekstrak *CAL* pada konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5%, 15% terhadap *cell lines BHK-21* dengan menggunakan esei *MTT*, sehingga dapat diketahui konsentrasi ekstrak *CAL* yang sitotoksitasnya terendah.
2. Untuk mengetahui perbedaan sitotoksitas infusa *CAL* pada konsentrasi 12,5%, 15%, 17,5%, 20% dan 22,5% terhadap *cell lines BHK-21* dengan menggunakan esei *MTT*, sehingga dapat diketahui konsentrasi infusa *CAL* yang sitotoksitasnya terendah.

3.2 Manfaat Penelitian

1. Hasil penelitian yang diperoleh akan memberikan informasi ilmiah kepada dokter gigi dan masyarakat mengenai konsentrasi ekstrak dan infusa *CAL* yang sitotoksitasnya rendah terhadap *Cell lines BHK-21*
2. Penemuan konsentrasi ekstrak dan infusa *CAL* yang sitotoksitasnya rendah terhadap *Cell lines BHK-21* digunakan sebagai dasar dalam penentuan pemakaian ekstrak dan infusa tersebut sebagai salah satu alternatif obat kumur.

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian : Eksperimental Laboratoris

4.2 Rancangan Penelitian : Post test only control group

4.3 Subyek penelitian : Ekstrak dan Infusa *CAL*

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel bebas

1. Konsentrasi ekstrak *CAL* 7,5%, 10%, 12,5%, 15%.
2. Konsentrasi infusa *CAL* 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5%

4.4.2 Variabel tergantung

1. Nilai densitas optik formazan larutan ekstrak *CAL*.
2. Nilai densitas optik formazan larutan infusa *CAL*.

4.4.3 Variabel Kendali

Kesamaan lahan tanam, waktu panen, waktu pengeringan, cara kerja pembuatan ekstrak dan infusa, sterilitas, bahan dan cara kerja uji sitotoksitas.

4.5 Definisi Operasional Variabel

1. Sitotoksitas adalah cara menilai sitotoksis suatu bahan dengan menghitung jumlah sel yang hidup, setelah terpapar bahan yang akan diuji.
2. Esei *MTT* adalah pemecahan cincin tetrazolium *MTT* (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) 2,5-diphenyl tetrazolium bromide) oleh adanya dehidrogenase pada mitokondria yang aktif, menghasilkan produk *formazan* biru keunguan yang tidak larut. Produksi *formazan* dapat dihitung dengan melarutkannya dan mengukur densitas optik dari

larutan yang dihasilkan. Reaksi warna biru keunguan digunakan sebagai ukuran dari jumlah sel hidup dengan bantuan alat spektrofotometer.

4.6 Lokasi Penelitian

Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Bagian PMPP Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya.

4.7 Bahan Penelitian

Kultur *cell line* BHK-21 pasase 60 (Pusvetma-Surabaya), Media kultur berisi Eagle's minimum essential medium (MEM), Kanamicyn, Penstrep 1%, *Foetal Bovine Serum* (FBS) 10%, Fungizone 100 unit/ml), Pereaksi MTT (3-[4,5-Dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide) Lot. 042K5313 (Sigma-USA), *Phosphat Buffer Saline* (PBS), *Dimethylsulfoxide* AnalAR (DMSO) Lot 208KI6687088 (BDH-England) dan Daun *CAL* yang didapat dari kebun percobaan Pusat Penelitian Obat Tradisional.

4.8 Alat Penelitian

Filter Millipore Minisart 0,20 μm Lot. 16534040736 (Sartorius), flask (Nunc), microplate 96 well Nunc Batch.04644 (Nuncclon-Denmark), pipet Pasteur, shaker Vari Shaker (Dynatech), Autoclave (Foundry), Syringe injeksi 5 cc (Terumo), Syringe Tuberculin 1 cc (Terumo), Ependorf micropipette (Titertek, England), Incubator memmert W. Germany 37 C 5% CO₂, Laminar flow Oliphant Australia, ELISA reader 630 nm Opsysmr Denmark.

4.9 Sampel Penelitian

Besar sampel untuk masing-masing kelompok adalah 8 buah, berdasarkan rumus (Daniel, 1991):

$$n = \frac{(z \frac{1}{2} \alpha)^2 \delta^2}{d^2}$$

$z \frac{1}{2} \alpha = 1,96$ (untuk $\alpha = 0,05$)

δ = simpangan baku (SD) terbesar dari hasil penelitian pendahuluan

$d = \frac{1}{2}$ atau $\frac{1}{4}$ SD

Dari hasil perhitungan dengan rumus tersebut diperoleh $n = 7,48$ dibulatkan 8.

4.10 Cara Penelitian

4.10.1 Pembuatan Infusa daun *CAL*

Sebelum dibuat infusa, tanaman diidentifikasi di Balai Materia Medika Batu (Lampiran 1). Daun jinten, umur 3-4 bulan di panen dari kebun percobaan Pusat Penelitian Obat Tradisional Jl. Indrapura 17 Surabaya pada pk. 07.00. Dilakukan pengeringan selama 14 hari di dalam ruangan dengan suhu 24°C. Setelah kering dibuat infusa sebagai berikut (Farmakope Indonesia, 1979) :

1. Daun *CAL* kering , dibuat serbuk ditimbang seberat 10 gram
2. Ditambah akuades steril 100 ml dan akuades ekstra sebanyak dua kali berat serbuk kering (20 ml)
3. Dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu 90 °C, sambil sesekali diaduk
4. Setelah dingin infusa disaring dengan kertas saring, dan ditambahkan akuades panas pada ampasnya hingga didapatkan 100 ml infusa
5. Dipekatkan di atas penangas air sampai volume 10 ml, yang merupakan konsentrasi infusa 100%

6. Diencerkan sesuai dengan konsentrasi yang dibutuhkan, yaitu masing-masing 1,25 ml, 1,50 ml, 1,75 ml, 2 ml, 2,25 ml infusa dalam 8.75 ml, 8,50 ml, 8,25 ml, 8 ml, 7,75 ml akuades untuk konsentrasi 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5%
7. Dilakukan sterilisasi dengan filter unit Millipore 0,20 μ m

4.10.2 Pembuatan Ekstrak daun *CAL* :

1. Daun *CAL* kering dibuat serbuk, serbuk yang di peroleh ditimbang seberat 1000 gr.
2. Dilakukan maserasi dengan pelarut etanol sebanyak 3000 ml, selama 72 jam, kemudian disaring dengan corong buchner.
3. Filtrat hasil saringan diuapkan dengan vacum evaporator selama 5 jam, didapatkan hasil 100 gr ekstrak murni daun jinten.
4. Ekstrak murni di timbang 1,5 gr, 1,25 gr, 1 gr, 0,75 gr. dilarutkan dalam akuades steril sebanyak 10 ml, di masukkan dalam *ultrasonic* selama 15 menit.
5. Dilakukan sterilisasi dengan filter unit Millipore

4.10.3 Uji Sitotoksisitas

1. Disiapkan kultur sel *BHK-21*, *microplate* dengan 96 *well* (sumuran) steril dan bekerja di dalam *laminar flow*.
2. Sumuran pada *microplate* diisi sel dengan kepadatan $6,4 \times 10^3$ dalam media kultur Eagle's minimum essential medium (MEM), Kanamicyn, Penstrep 1%, *Foetal Bovine Serum (FBS)* 10%, Fungizone 100 unit/ml), sebanyak 100 μ l.
3. Bahan uji sampel setiap kelompok, yang telah di filter menggunakan *millipore* 0,20 μ m, kemudian ditambahkan ke dalam tiap sumuran sebanyak 50 μ l, sesuai dengan kelompok sampel yaitu ekstrak *CAL* dengan konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5%, 15% dan infusa *CAL* dengan konsentrasi 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5%. Disiapkan pula kontrol sel dan kontrol media. Kontrol sel adalah tiap

sumuran berisi sel dan media kultur saja. Kontrol media adalah tiap sumuran yang berisi media kultur saja. *Microplate* di inkubasi 20 jam pada suhu 37 °C, 5 % CO₂.

4. Disiapkan *MTT* 5 mg/ml dalam *PBS* dan di filter menggunakan *millipore* 0,20 µm. *Microplate* dikeluarkan dari alat inkubasi, media di dalam *well* di ambil menggunakan *syringe*, sel akan tertinggal dalam *well*. Pereaksi *MTT* ditambahkan sebanyak 50 µl untuk setiap sumuran (Li et al,2000), kemudian di inkubasi kembali selama 4 jam agar *MTT* dapat beraktifitas metabolik. Total waktu inkubasi dalam inkubator 37 °C selama 24 jam.
5. Setelah masa inkubasi selesai, *MTT* di ambil menggunakan *syringe*, kemudian ditambahkan larutan *DMSO* sebanyak 50 µl tiap sumuran untuk menghentikan produk metabolik *MTT*. Untuk melarutkan, *microplate* di *shaker* selama 5 menit.
6. Nilai densitas optik *formazan* dibaca dengan *Elisa reader* panjang gelombang 630 nm (Park,2006)
7. Untuk mengetahui persentase jumlah sel hidup dilakukan dengan memakai rumus (Titien,2002):

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{perlakuan} + \text{media}}{\text{sel} + \text{media}} \times 100\%$$

4.11 Analisis Data

Hasil pengukuran ditabulasi menurut kelompok masing-masing, kemudian dilakukan pengujian statistik dengan menggunakan Anava satu arah pada taraf kemaknaan 5%. Apabila ada perbedaan yang bermakna kemudian dilanjutkan dengan uji *LSD*.

BAB V

HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1 HASIL

Hasil nilai rerata densitas optik formazan larutan ekstrak dan infusa *CAL* diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 630 nm dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Tabel 5.1. Nilai rerata densitas optik formazan pada larutan ekstrak *CAL*, simpang baku, persentase dan probabilitas normalitas

Konsentrasi	Nilai Densitas Optik			PN	N
	X	SD	%		
Kontrol sel	0,13763	0,04658	100,000	0.645	8
7,5%	0,12925	0,00539	96,088	0,922	8
10%	0,11725	0,00265	89,410	0.984	8
12,5%	0,10913	0,00203	84,085	0,979	8
15%	0,10175	0,00420	80,947	0,919	8

Keterangan : X = Rerata nilai densitas optik SD = Simpang baku
 PN = Probabilitas normalitas N = Jumlah sampel
 % = Rerata prosentase densitas optik formazan

Tabel 5.2. Nilai rerata densitas optik formazan pada larutan infusa *CAL*, simpang baku, persentase dan probabilitas normalitas

Konsentrasi	Nilai Densitas Optik			PN	N
	X	SD	%		
Kontrol sel	0,18725	0,01028	100	0.606	8
12,5%	0,16988	0,01124	92,691	0,997	8
15%	0,16613	0,00908	91,553	0.884	8
17,5%	0,15675	0,00979	87,033	0,973	8
20%	0,15113	0,00749	84,651	0,761	8
22,5%	0,14638	0,00843	82,602	0,813	8

Keterangan : X = Rerata nilai densitas optik SD = Simpang baku
 PN = Probabilitas normalitas N = Jumlah sampel
 % = Rerata prosentase densitas optik formazan

Dari tabel 5.1 dan 5.2 tampak bahwa masing-masing konsentrasi larutan ekstrak dan infusa *CAL* menunjukkan nilai densitas optik yang semakin menurun dengan bertambahnya konsentrasi. Persentase densitas optik enzim mitokondrial dehidrogenase pada kultur sel *BHK-21* juga terjadi penurunan. Probabilitas normalitas pada Kolmogorof-Smirnov Test menunjukkan seluruh kelompok mempunyai nilai probabilitas lebih besar dari 0,05 ($p > 0,05$), artinya seluruh kelompok berdistribusi normal, kemudian dilakukan uji parametrik menggunakan uji anava satu arah pada tabel 5.3 dan 5.4.

Tabel 5.3. Hasil Uji Anava satu arah densitas optik formazan pada larutan ekstrak *CAL* dengan konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5%, 15% dan kontrol sel

Sumber variasi	Jumlah kuadrat	Db	Rerata kuadrat	F	P
Antar perlakuan	0.043	5	0.009	594.546	0.000
Dalam perlakuan	0.001	42	0.000		
Total	0.044	47			

Keterangan : db = derajat bebas F = F hitung P = Probabilitas

Tabel 5.4. Hasil Uji Anava satu arah densitas optik formazan pada larutan infusa *CAL* dengan konsentrasi 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% dan kontrol sel

Sumber variasi	Jumlah kuadrat	Db	Rerata kuadrat	F	P
Antar perlakuan	0.100	6	0.017	204.523	0.000
Dalam perlakuan	0.004	49	0.000		
Total	0.14	55			

Keterangan : db = derajat bebas F = F hitung P = Probabilitas

Hasil uji anava satu arah menunjukkan ada perbedaan yang bermakna pada nilai densitas optik masing-masing konsentrasi larutan ekstrak maupun infusa *CAL* dengan nilai probabilitas = 0,000 ($p < 0,05$). Untuk menentukan perbedaan kemaknaan antar perlakuan terhadap kontrol dilakukan uji *LSD* pada $\alpha = 0,05$, hasilnya dapat dilihat pada tabel 5.5 dan 5.6.

Tabel 5.5 Uji *LSD* densitas optik formazan antar masing-masing perlakuan pada larutan ekstrak *CAL*

Kelompok	7.5%	10%	12.5%	15%	Kontrol sel
Kontrol sel	B	B	B	B	-
15%	B	B	B	-	
12.5%	B	B	-		
10%	B	-			
7.5%	-				

Keterangan : B = Bermakna

Tabel 5.6 Uji *LSD* densitas optik formazan antar masing-masing perlakuan pada larutan infusa *CAL*

Kelompok	12,5%	15%	17.5%	20%	22,5%	Kontrol Sel
Kontrol sel	B	B	B	B	B	-
22,5%	B	B	B	TB	-	
20%	B	B	TB	-		
17,5%	B	B	-			
15%	TB	-				
12,5%	-					

Keterangan : B: Bermakna TB: Tidak Bermakna

Pengujian *LSD* pada tabel 5 menunjukkan bahwa ada perbedaan bermakna antara masing-masing kelompok konsentrasi ekstrak 7,5%, 10%, 12,5%, 15% dan kontrol sel, berarti peningkatan konsentrasi larutan ekstrak *CAL* akan mempengaruhi nilai densitas optik formazan. Pada tabel 6 menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara masing-masing kelompok konsentrasi infusa 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% dan kontrol sel kecuali pada konsentrasi 12,5% dan 15%, 17,5% dan 20%, 20% dan 22,5% tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

5.2 PEMBAHASAN

Salah satu tanaman obat keluarga yang sering ditanam di kebun dan mudah tumbuh adalah Daun jinten dengan nama ilmiah botani *CAL*. Kandungan kimianya antara lain fenol dan turunan senyawa fenol yang dinyatakan sebagai antiseptik bernilai tinggi (Heyne, 1987; Wijayakusuma et al., 1996).

Larutan ekstrak *CAL* pada konsentrasi 7,5%, 10%, 12,5% dan 15% dapat menurunkan keberadaan *Candida albicans* pada plat resin akrilik, dan dari hasil kromatografi lapis tipis dalam 10 mg ekstrak mengandung fenol 5,15% dan sineol 3,65% (Devi, 2003), sehingga larutan ekstrak tersebut dapat digunakan sebagai alternatif bahan pembersih gigitiruan resin akrilik. Dari hasil penelitian Devi (2005) selanjutnya konsentrasi infusa *CAL* yang semakin meningkat, yaitu 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% akan menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* dan *S. mutans*.

Penggunaan ekstrak dan infusa *CAL* sebagai pembersih gigitiruan dan alternatif obat kumur akan terjadi kontak dengan mukosa rongga mulut. Salah satu pengujian untuk menentukan berbagai sifat dari suatu desinfektan maupun antiseptik adalah uji

sitotoksitas terhadap jaringan. Untuk membuktikannya maka dilakukan uji sitotoksitas secara invitro pada kultur sel *BHK-21* menggunakan esei *MTT*.

Penggunaan kultur sel *BHK-21* yang berasal dari fibroblas ginjal hamster, oleh karena sel fibroblas merupakan sel terpenting dan komponen terbesar dari pulpa, ligamen periodontal dan gingival (Freshney, 1987).

Pada penelitian ini, nilai rerata densitas optik formazan pada larutan ekstrak *CAL* dengan konsentrasi yang semakin meningkat, yaitu 7,5%, 10%, 12,5%, 15% menunjukkan penurunan (Tabel 1), dan nilai densitas optik formazan pada larutan infusa *CAL* dengan konsentrasi yang semakin meningkat, yaitu 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% menunjukkan penurunan (Tabel 2). Perhitungan statistik menggunakan Anava satu arah dan dilanjutkan dengan *LSD* pada taraf kemaknaan 5% menunjukkan makin tinggi konsentrasi larutan ekstrak, maka makin rendah nilai densitas optik formazan secara bermakna, sedangkan pada larutan infusa menunjukkan ada perbedaan yang bermakna antara masing-masing kelompok konsentrasi infusa 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% dan kontrol sel kecuali pada konsentrasi 12,5% dan 15%, 17,5% dan 20%, 20% dan 22,5% tidak menunjukkan perbedaan yang bermakna.

Hal ini disebabkan esei *MTT* didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam *MTT*. Prinsip esei ini adalah pemecahan cincin tetrazolium *MTT* (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide) yang berwarna kuning oleh adanya dehidrogenase pada mitokondria yang aktif, menghasilkan produk formazan biru keunguan yang tidak larut. Mekanismenya adalah garam tetrazolium berwarna kuning tersebut akan direduksi didalam sel yang mempunyai aktivitas metabolik, yang mempunyai peranan penting dalam hal ini adalah mitokondria dari sel hidup yang menghasilkan dehidrogenase. Bila dehidrogenase tidak aktif karena efek sitotoksik, maka formazan tidak akan terbentuk (Kasugai et al, 1991). Produksi formazan dapat dihitung dengan

melarutkannya dan mengukur densitas optik dari larutan yang dihasilkan (Craig dan Powers, 2002). Reaksi warna biru keunguan digunakan sebagai ukuran dari sel hidup, jumlah sel hidup dapat diukur sebagai hasil produk *MTT* dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 540-570 nm dan 570-630 nm (Fazwishni & Hadijono, 2000; Park, 2006). sehingga persentase densitas optik yang semakin rendah berarti menunjukkan sel yang metabolik aktif dapat mereduksi *MTT* juga semakin rendah.

Proses kematian sel, kemungkinan disebabkan karena terdapat kandungan fenol 5,15% dan sineol 3,65% dalam ekstrak tersebut. Mekanisme kerja fenol yang bersifat asam dengan kepolaran yang tinggi, mengakibatkan ikatan senyawa polar dengan lipoprotein sel sehingga terjadi penimbunan senyawa tersebut disertai pemecahan lemak yang mengganggu permeabilitas membran sel, akhirnya sel bengkak dan pecah (Schlegel dan Schmidt, 1994). Mekanisme yang lain dijelaskan oleh Melville dan Russel (1981), yaitu reaksi dengan protein sel adalah proses penghambatan atau pembunuhan dengan cara merusak sistem koloid dengan mengadakan koagulasi dan presipitasi protein. Adanya koagulasi protein sel menyebabkan gangguan metabolisme.

Tarigan (1980) berpendapat bahwa bahan alami yang dipakai sebagai obat lebih dapat diterima oleh jaringan tubuh dibandingkan dengan bahan sintetis, tetapi Paracelsus (1493-1541) menyatakan bahwa semua substansi adalah racun. Dosis yang tepat membedakan racun atau obat (Tarigan, 1980). Konsentrasi merupakan istilah lain dari dosis yang dipakai untuk substansi dalam bentuk larutan (Timbrell, 1994). Hal ini menunjukkan terdapat hubungan yang erat antara konsentrasi suatu bahan terhadap sitotoksitasnya.

Persentase nilai densitas optik yang terendah adalah 80,947% berasal dari konsentrasi larutan ekstrak *CAL*. yang tertinggi yaitu 15%. Berarti pada konsentrasi yang tertinggi dari ekstrak tersebut jumlah sel yang hidup lebih dari 50%, sesuai dengan pendapat Freshney

(1987), yang menyatakan semakin tinggi persentase sel yang hidup mempunyai sitotoksitas yang semakin rendah.

Didukung oleh pernyataan Hugo dan Russel (1989) bahwa fenol pada konsentrasi yang tinggi bersifat toksik, tetapi fenol yang tersubstitusi kurang toksik dan dapat digunakan sebagai bahan pengawet dan antiseptik. Dikatakan pula oleh Kasugai et al. (1991) ada hubungan antara ID_{50} dan koefisien fenol, ID_{50} adalah konsentrasi yang dapat membunuh 50% sel. Tsukamoto et al. melaporkan bahwa konsentrasi yang rendah dari beberapa senyawa fenol menstimulasi proliferasi fibroblas pulpa manusia. Fenomena ini dikenal sebagai *hormesis* dan memberikan kontribusi pada perbaikan jaringan pulpa (Telli et al, 1999). Pada penelitian Telli et al. (1999) menyatakan bahwa parameter toksisitas berdasarkan CD_{50} , artinya suatu bahan dikatakan toksik apabila persentase sel hidup setelah terpapar bahan tersebut kurang dari 50%.

BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 KESIMPULAN

Dari hasil penelitian eksperimental laboratories Uji SITOTOKSISITAS EKSTRAK DAN INFUSA *CAL* MENGGUNAKAN ESEI MIT dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Konsentrasi larutan ekstrak *CAL* yang semakin meningkat, yaitu 7,5%, 10%, 12,5%, 15% maka semakin tinggi sitotoksitasnya.
2. Konsentrasi larutan infusa *CAL* yang semakin meningkat, yaitu 12,5%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% maka semakin tinggi sitotoksitasnya.
3. Larutan ekstrak dan infusa *CAL* tidak toksik, karena persentase sel *BHK-21* yang hidup setelah kontak dengan larutan pada konsentrasi yang tertinggi masih diatas 80%

6.2 SARAN

Larutan ekstrak dan infusa *CAL* dapat digunakan sebagai dasar penggunaan alternatif bahan pembersih gigitiruan resin akrilik dan obat kumur. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut pada kultur sel epitel, mengingat salah satu komponen mukosa rongga mulut adalah sel epitel.

DAFTAR PUSTAKA

- Bahalwan R. dan Sjabana D., 2002. Mengkudu seri referensi herbal. Salemba Medika. Jakarta. pp 3
- Craig RG & Powers JM. 2002. Restorative Dental Materials. 6th ed, London. Mosby Co. p. 135-140.
- Dep Kes RI, 1979. Farmakope Indonesia. Edisi 3, Dep Kes RI, Jakarta. hlm 12-13.
- Devi R.,2003. Daya antimikroba ekstrak *Coleus amboinicus*, Lour terhadap *Candida albicans* pada resin akrilik. J Kedokteran gigi Indonesia 10 ed. Khusus: 845- 851.
- Devi R, 2005. Daya antimikroba infusa CAL terhadap *Candida albicans* dan *Streptococcus mutans*. Laporan Penelitian DIPA UNAIR
- Eha D., 1999. Khasiat obat kumur infusa daun Kacapiring terhadap perubahan mikroorganisme rongga mulut pemakai Gigi Tiruan Lepas. M. I. Ked. Gigi FKG Usakti, ed. Khusus FORIL VI:497-501.
- Fazwishni S dan Hadijono BS. 2000. Uji sitotoksitas dengan esei MTT. JKGUI; 7 : 28-32.
- Freshney, RI. 1987. Culture of animal cells. A manual of basic technique, 2nd ed, New York. AlanR Liss Inc. p. 9,71,128,239.
- Hammerschmidt FJ, Clark AM, Soliman FM, El-Kashoury ES, Kawy MM, and Fishawy AM, 1993. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Jasonia Candicans* and *Jasonia Montana*. Planta Med 59 : 68-70.
- Heyne, K, 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia. Jilid III. Badan Litbang Kehutanan. Yayasan Sarana Wana Jaya. Jakarta. hlm 1698.
- Hugo WB and Russel AD, 1989. Pharmaceutical Microbiology, 4th edition, Blackwell Scientific Publications, Oxford London Edinburgh Boston Melbourne. pp 226-233.
- Hutapea JR.,1982. Pemeriksaan pendahuluan golongan kandungan kimia tanaman CAL (Labiateae) asal Tawangmangu. Balai Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu, Pusat Penelitian Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Departemen Kesehatan RI.389-394

- Kidd EAM. And Bechal SJ., 1992. Dasar-dasar karies penyakit dan penanggulangannya. Terjemahan Essentials of dental caries, The disease and its management. 1-8. Company. New York. pp 676, 688-689.
- Kasugai S, Hasegawa N and Ogura H. 1991. Application of the MTT colorimetric assay to measure cytotoxic effect of phenolic compound on established rat pulp cells. J.Dent Res.; 70: 127-130.
- Lawrence GHM, 1951. Taxonomy of Vascular Plant. The Mac millan Company. New York. pp 676, 688-689.
- Maat S. 2001. Sterilisasi dan disinfeksi. Ceramah sehari penyucihamaan (sterilisasi) sarana pelayanan kesehatan. Patologi Klinik RSUD Dr.Soetomo Surabaya, h: 14.
- Melville PH and Russel C, 1981. Microbiology for Dental Student. 3rd edition. Williem Heinemann Medical Book Ltd. London. pp 155-176.
- O'Neil TCA, 1975. Antibacterial properties of periodontal dressing. J Periodontol 46 : 469.
- Park JB. 2006 Chapter 1 MTT Assay <http://www.pl.barc.usda.gov/chapters/chapter1.cfm> 9/27/2006
- Rahardjo MB, 1993. Perbedaan daya antibakteri *Allium Sativum* Linn dan *Kaempferia Galanga* terhadap *Streptococcus Mutans* dan bermacam-macam bakteri yang berasal dari saluran akar Gigi gangraena pulpa. Tesis. Universitas Airlangga. Surabaya. hlm 13.
- Schlegel HG and Schmidt K. 1994. Mikrobiologi Umum. Alih bahasa Baskoro T. Penyunting Wattimena JR. Edisi ke 6. Gajah Mada University Press. Jogjakarta. hlm 234.
- Tarigan P. 1980. Sapogenin steroid. Penerbit Alumni. Bandung. hlm. 1.
- Telli C, Serper A, Dogan AL, Guc D. 1999. Evaluation of the cytotoxicity of calcium phosphate root canal sealers by MTT assay. J Endodon.;25: 811-813.
- Timbrell JA. 1994. Principle of biochemical toxicology. 2nd edition. Taylor & Francis Ltd. London. pp 33, 35, 216-227.
- Titien HA. 2002. Pengaruh Tegangan Listrik dan Lama Penyinaran pada Semen Ionomeri Gelas Modifikasi Resin Terhadap Kekerasan Permukaan dan Sitotoksis. Tesis. Pasca Sarjana Universitas Airlangga, Surabaya.
- Wijayakusuma H, Dalimartha S, dan Wirian AG, 1996. Tanaman Obat Berkhasiat Indonesia Jilid IV. Edisi 1. Pustaka Kartini. Jakarta. hlm 38-41.
- Windholz M, 1989. The Merck Index. 11th edition. Merck & Co., Inc. USA. pp 34-35.

Lampiran 1.



PEMERINTAH PROPINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN BALAI MATERIA MEDICA
Jalan Lahor 87 Telp. (0341) 553396 Batu (65313)
KOTATIF BATU

Nomor : 703/2039/115.21/2002
Sifat : Biasa
Lampiran : -
Perihal : Keterangan Determinasi Tanaman

Daun Jinten

Memenuhi permohonan dari saudara perihal mengenai data data Determinasi
Tanaman Daun Jinten Sbb:

Daun Jinten

Divinisi	: Spermatophita
Sub divinisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Solanales
Suku	: Labiace
Marga	: Coleus
Jenis	: Coleus arborescens Lour.

Demikian keterangan Determinasi ini kami sampaikan dan atas kerja samanya
taklupa kami sampaikan terima kasih.

Batu, 30 Juli 2002

Kepala Balai Materia Medica Batu

SITI HIDAYATI AMALIA
Nip. 510 101 233

Lampiran 2.

UJI DISTRIBUSI NORMAL

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol Sel	Kontrol Media	Konsentrasi 7,5%	Konsentrasi 10%	Konsentrasi 12,5%	Konsentrasi 15%
N		8	8	8	8	8	8
Normal Parameters	Mean	.13763	.04513	.12925	.11725	.10913	.10175
	Std. Deviation	.004658	.002748	.005392	.002659	.002031	.004200
Most Extreme Differences	Absolute	.261	.232	.195	.162	.167	.196
	Positive	.261	.143	.195	.162	.102	.196
	Negative	-.160	-.232	-.175	-.120	-.167	-.129
Kolmogorov-Smirnov Z		.739	.656	.551	.459	.472	.554
Asymp. Sig. (2-tailed)		.645	.783	.922	.984	.979	.919

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol Sel	Kontrol Media	Konsentrasi 12,5%	Konsentrasi 15%	Konsentrasi 17,5%	Konsentrasi 20%	Konsentrasi 22,5%
N		8	8	8	8	8	8	8
Normal Parameters	Mean	.18725	.04763	.16988	.16613	.15675	.15113	.14638
	Std. Deviation	.010278	.005706	.011243	.009078	.009794	.007492	.008434
Most Extreme Differences	Absolute	.270	.302	.141	.207	.171	.237	.225
	Positive	.270	.302	.141	.164	.171	.237	.209
	Negative	-.147	-.209	-.129	-.207	-.136	-.139	-.225
Kolmogorov-Smirnov Z		.762	.855	.397	.585	.484	.689	.636
Asymp. Sig. (2-tailed)		.606	.458	.997	.884	.973	.761	.813

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Lampiran 3

UJI ANAVA SATU ARAH

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Ekstrak CAL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.839	5	42	.126

ANOVA

Ekstrak CAL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.043	5	.009	594.546	.000
Within Groups	.001	42	.000		
Total	.044	47			

Oneway

Test of Homogeneity of Variances

Infusa CAL

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.428	6	49	.857

ANOVA

Infusa CAL

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.100	6	.017	204.523	.000
Within Groups	.004	49	.000		
Total	.104	55			

Lampiran 4.

UJI LEAST SIGNIFICANT DIFFERENCE (LSD)

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Ekstrak CAL

LSD

(I) Kelompok Ekstrak CA	(J) Kelompok Ekstrak CAL	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Kontrol sel	Kontrol media	.092500*	.001906	.000	.08865	.09635
	Konsentrasi 7,5%	.008375*	.001906	.000	.00453	.01222
	Konsentrasi 10%	.020375*	.001906	.000	.01653	.02422
	Konsentrasi 12,5%	.028500*	.001906	.000	.02465	.03235
	Konsentrasi 15%	.035875*	.001906	.000	.03203	.03972
Kontrol media	Kontrol sel	-.092500*	.001906	.000	-.09635	-.08865
	Konsentrasi 7,5%	-.084125*	.001906	.000	-.08797	-.08028
	Konsentrasi 10%	-.072125*	.001906	.000	-.07597	-.06828
	Konsentrasi 12,5%	-.064000*	.001906	.000	-.06785	-.06015
	Konsentrasi 15%	-.056625*	.001906	.000	-.06047	-.05278
Konsentrasi 7,5%	Kontrol sel	-.008375*	.001906	.000	-.01222	-.00453
	Kontrol media	.084125*	.001906	.000	.08028	.08797
	Konsentrasi 10%	.012000*	.001906	.000	.00815	.01585
	Konsentrasi 12,5%	.020125*	.001906	.000	.01628	.02397
	Konsentrasi 15%	.027500*	.001906	.000	.02365	.03135
Konsentrasi 10%	Kontrol sel	-.020375*	.001906	.000	-.02422	-.01653
	Kontrol media	.072125*	.001906	.000	.06828	.07597
	Konsentrasi 7,5%	-.012000*	.001906	.000	-.01585	-.00815
	Konsentrasi 12,5%	.008125*	.001906	.000	.00428	.01197
	Konsentrasi 15%	.015500*	.001906	.000	.01165	.01935
Konsentrasi 12,5%	Kontrol sel	-.028500*	.001906	.000	-.03235	-.02465
	Kontrol media	.064000*	.001906	.000	.06015	.06785
	Konsentrasi 7,5%	-.020125*	.001906	.000	-.02397	-.01628
	Konsentrasi 10%	-.008125*	.001906	.000	-.01197	-.00428
	Konsentrasi 15%	.007375*	.001906	.000	.00353	.01122
Konsentrasi 15%	Kontrol sel	-.035875*	.001906	.000	-.03972	-.03203
	Kontrol media	.056625*	.001906	.000	.05278	.06047
	Konsentrasi 7,5%	-.027500*	.001906	.000	-.03135	-.02365
	Konsentrasi 10%	-.015500*	.001906	.000	-.01935	-.01165
	Konsentrasi 12,5%	-.007375*	.001906	.000	-.01122	-.00353

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Infusa CAL

LSD

		Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
(I) Kelompok Infusa CAL	(J) Kelompok Infusa CAL				Lower Bound	Upper Bound
Kontrol sel	Kontrol media	.139625*	.004513	.000	.13056	.14869
	Konsentrasi 12,5%	.017375*	.004513	.000	.00831	.02644
	Konsentrasi 15%	.021125*	.004513	.000	.01206	.03019
	Konsentrasi 17,5%	.030500*	.004513	.000	.02143	.03957
	Konsentrasi 20%	.036125*	.004513	.000	.02706	.04519
	Konsentrasi 22,5%	.040875*	.004513	.000	.03181	.04994
Kontrol media	Kontrol sel	-.139625*	.004513	.000	-.14869	-.13056
	Konsentrasi 12,5%	-.122250*	.004513	.000	-.13132	-.11318
	Konsentrasi 15%	-.118500*	.004513	.000	-.12757	-.10943
	Konsentrasi 17,5%	-.109125*	.004513	.000	-.11819	-.10006
	Konsentrasi 20%	-.103500*	.004513	.000	-.11257	-.09443
	Konsentrasi 22,5%	-.098750*	.004513	.000	-.10782	-.08968
Konsentrasi 12,5%	Kontrol sel	-.017375*	.004513	.000	-.02644	-.00831
	Kontrol media	.122250*	.004513	.000	.11318	.13132
	Konsentrasi 15%	.003750	.004513	.410	-.00532	.01282
	Konsentrasi 17,5%	.013125*	.004513	.005	.00406	.02219
	Konsentrasi 20%	.018750*	.004513	.000	.00968	.02782
	Konsentrasi 22,5%	.023500*	.004513	.000	.01443	.03257
Konsentrasi 15%	Kontrol sel	-.021125*	.004513	.000	-.03019	-.01206
	Kontrol media	.118500*	.004513	.000	.10943	.12757
	Konsentrasi 12,5%	-.003750	.004513	.410	-.01282	.00532
	Konsentrasi 17,5%	.009375*	.004513	.043	.00031	.01844
	Konsentrasi 20%	.015000*	.004513	.002	.00593	.02407
	Konsentrasi 22,5%	.019750*	.004513	.000	.01068	.02882
Konsentrasi 17,5%	Kontrol sel	-.030500*	.004513	.000	-.03957	-.02143
	Kontrol media	.109125*	.004513	.000	.10006	.11819
	Konsentrasi 12,5%	-.013125*	.004513	.005	-.02219	-.00406
	Konsentrasi 15%	-.009375*	.004513	.043	-.01844	-.00031
	Konsentrasi 20%	.005625	.004513	.219	-.00344	.01469
	Konsentrasi 22,5%	.010375*	.004513	.026	.00131	.01944
Konsentrasi 20%	Kontrol sel	-.036125*	.004513	.000	-.04519	-.02706
	Kontrol media	.103500*	.004513	.000	.09443	.11257
	Konsentrasi 12,5%	-.018750*	.004513	.000	-.02782	-.00968
	Konsentrasi 15%	-.015000*	.004513	.002	-.02407	-.00593
	Konsentrasi 17,5%	-.005625	.004513	.219	-.01469	.00344
	Konsentrasi 22,5%	.004750	.004513	.298	-.00432	.01382
Konsentrasi 22,5%	Kontrol sel	-.040875*	.004513	.000	-.04994	-.03181
	Kontrol media	.098750*	.004513	.000	.08968	.10782
	Konsentrasi 12,5%	-.023500*	.004513	.000	-.03257	-.01443
	Konsentrasi 15%	-.019750*	.004513	.000	-.02882	-.01068
	Konsentrasi 17,5%	-.010375*	.004513	.026	-.01944	-.00131
	Konsentrasi 20%	-.004750	.004513	.298	-.01382	.00432

*. The mean difference is significant at the .05 level.